



Enzymatisk udvinding af RG-II fra sukkerroepektin i membranreaktor

Zeuner, Birgitte; Pinelo, Manuel; Meyer, Anne S.

Published in:
Dansk Kemi

Publication date:
2011

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Zeuner, B., Pinelo, M., & Meyer, A. S. (2011). Enzymatisk udvinding af RG-II fra sukkerroepektin i membranreaktor. *Dansk Kemi*, 92(9), 28-30.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

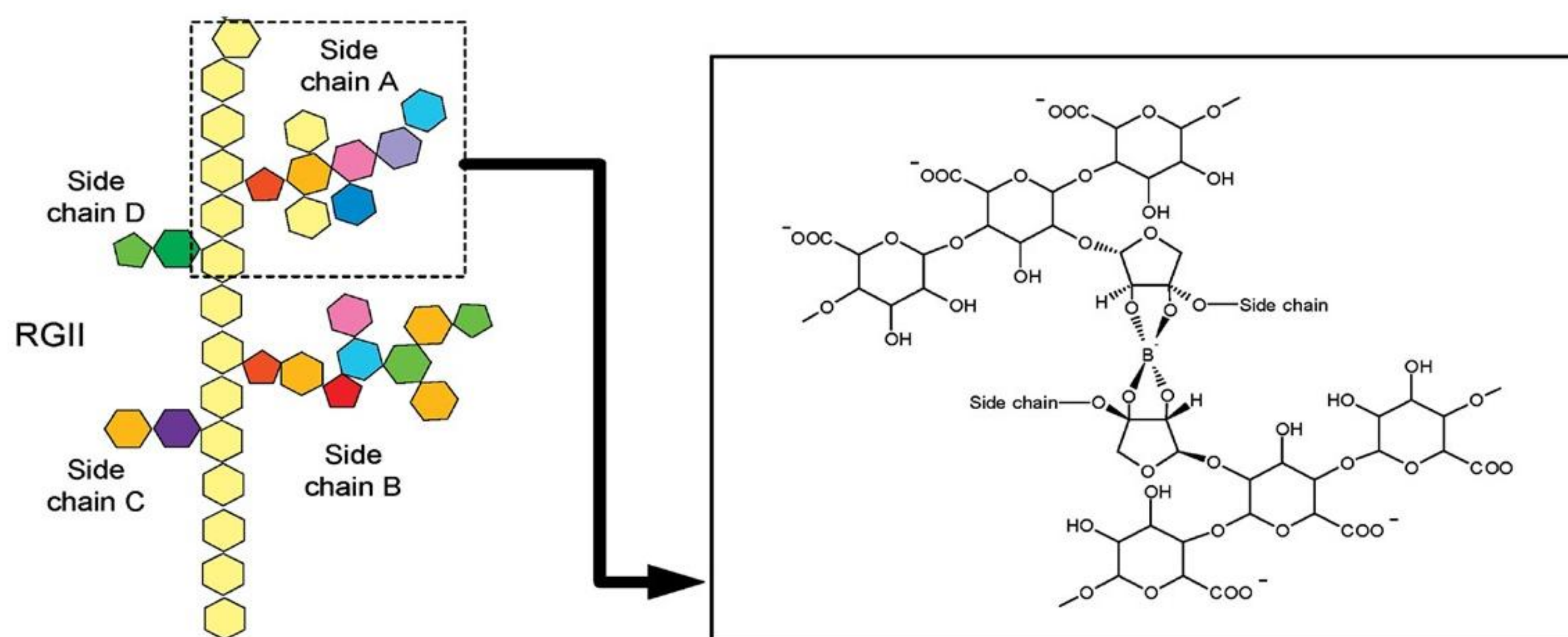
Enzymatisk udvinding af RG-II fra sukkerroepektin i membranreaktor

Brug af membranreaktor og optimering af reaktionsforholdene i den enzymatiske proces kan give et udbytte af rhamnogalacturonan II (RG-II) fra sukkerroepektin på op til 70%. RG-II kan altså udvindes enzymatisk fra affaldsproduktet fra sukkerindustrien. Om det har en gavnlig, fysiologisk effekt er endnu uvist.

Af Birgitte Zeuner, Manuel Pinelo og Anne S. Meyer, Center for BioProcess Engineering, Institut for Kemiteknik, DTU

Pektin, der findes i plantecellevægge i bl.a. citrusfrugter, æbler og sukkerroer, består af en række forskellige strukturer. Den mest komplekse af disse, rhamnogalacturonan II (RG-II), består af 11 forskellige monosakkarider heriblandt flere sjældne typer som apiose og 2-keto-3-deoxy-D-manno-octonat (KDO), der kun findes få andre steder i naturen (figur 1). Funktionen af RG-II er sandsynligvis at krydsbinde pektinnetværket i cellevæggen, idet to RG-II-molekyler sammen kan danne et

kompleks med et bor-molekyle (figur 1). Forskning har vist, at indtag af RG-II derfor kan modvirke optagelsen af en række forskellige tungmetaller fra kosten [1]. Andre resultater viser, at RG-II også kan modulere immunresponsen [2, 3]. Derfor har vi i et nyt studium undersøgt potentialet i at udvinde RG-II fra planteaffaldsprodukter, f.eks. sukkerroepulp fra sukkerindustrien, vha. pektinaser og dermed øge affaldsproduktets værdi både økonomisk og helbredsmæssigt. RG-II-strukturen kan udvindes selektivt fra sukkerroepektin vha. pektinaser fordi den i modsætning til de øvrige strukturer i pektinmolekylet er resistent over for enzymatisk nedbrydning med langt de fleste pektinaser og derfor forbliver intakt [4]. Netop derfor



Figur 1. Strukturen af rhamnogalacturonan II (RG-II) med de 11 forskellige monosakkarider, der indgår i strukturen, angivet i forskellige farver. De fire sidekæder på strukturen er navngivet A-D. Krydsbindingen mellem to RG-II-molekyler, der finder sted ved kompleksdannelse mellem apiose-molekylerne i sidekæde A og et bor-molekyle, er angivet til højre.

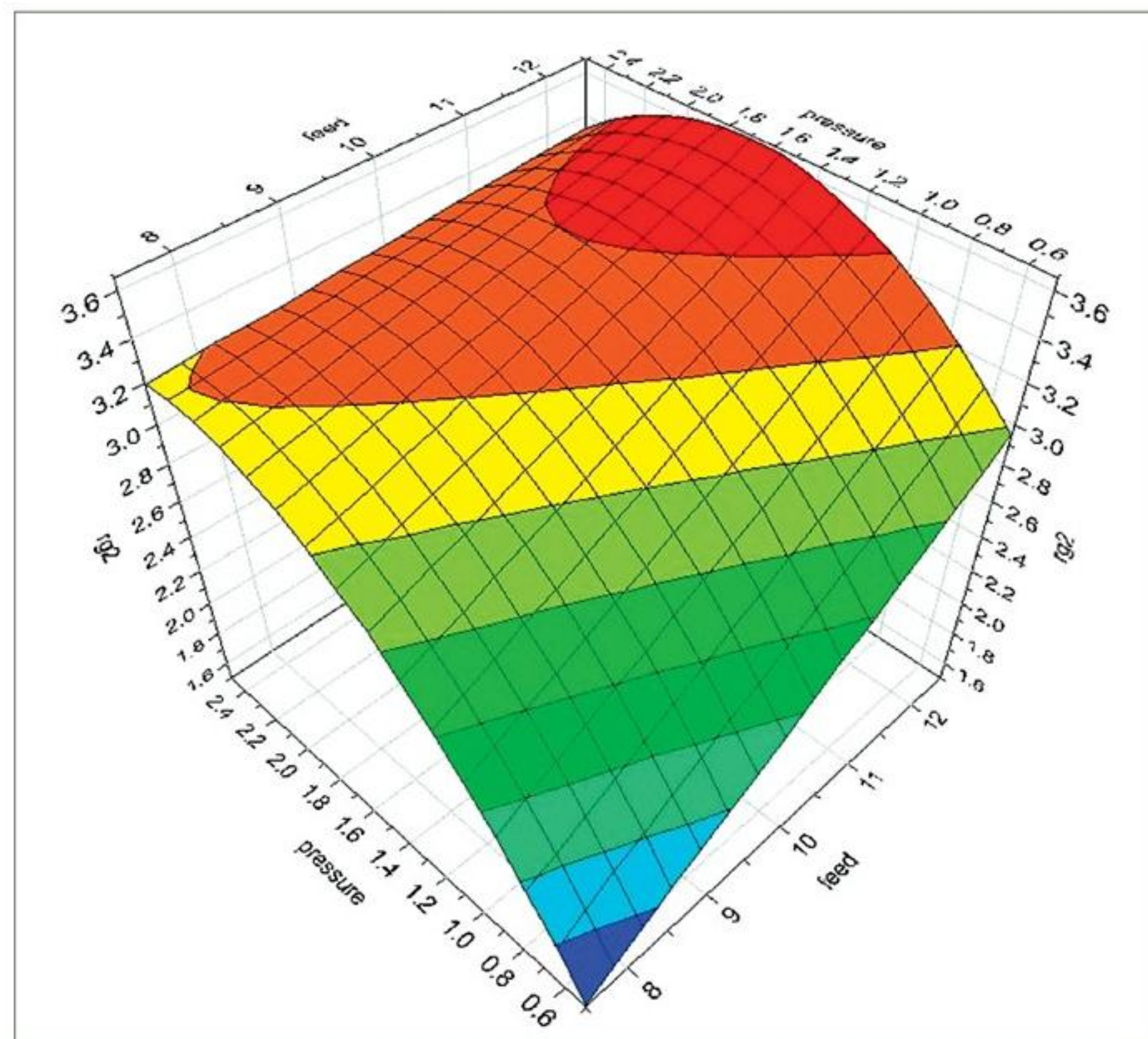
er en enzymatisk proces at foretrække til udvinding af RG-II, idet strukturen ikke udviser samme resistens over for f.eks. syrehydrolyse.

Enzymatisk membranreaktor giver procesfordele

Det viste sig, at vi ved at fjerne nedbrydningsprodukterne fra pektinopløsningen i en membranreaktor kunne øge udbyttet af RG-II med ca. 67% ift. det tilsvarende batchsystem. Ud over at kunne undgå produktinhibering af pektinaserne har brugen af membranreaktorer i enzymatiske processer den økonomiske fordel, at enzymet kan genbruges, uden at immobilisering er nødvendig. Derved opnås også et enzymfrit produkt samt mulighed for at kontrollere produktstørrelsen med valg af membran og at kombinere reaktionen med første trin i oprensningen [5].

Udbyttet stiger med enzym- og substratkoncentration

Ved optimering af den enzymatiske udvinding af RG-II fra sukkerroepektin i membranreaktoren med pektin lyase (EC 4.2.2.10) fra *Aspergillus aculeatus* fandt vi, at substratkoncentrationen havde en signifikant, positiv effekt på udbyttet af RG-II, sandsynligvis fordi en højere koncentration giver et højere flux af permeat over membranen. Pektinkoncentrationens effekt var højest ved lavt tryk (figur 2). Stigning i pektinkoncentrationen er dog også forbundet med øget viskositet og dermed risiko for dannelse af et gel-lignende lag på membranen, som fører til lavere flux og udbytte. En øget substratkoncentration skal derfor ledsages af en stigning i enzymkoncentration, da enzymaktiviteten nedsætter viskositeten ved at reducere mole-



Figur 2. Model af RG-II-udbytte (rg2; mg/g pektin) som funktion af pektinkoncentration (feed; g/L) og transmembrant tryk (pressure; bar) ved reaktion med pektin lyase fra *Aspergillus aculeatus*.

kylestørrelsen. Det viste sig, at enzym/substrat-forholdet (E/S; mængden af enzym ift. mængden af substrat) havde den mest markante, positive effekt på udbyttet af RG-II. Udbyttet af RG-II steg lineært med E/S.

Pumpsil: Platin-hærdede silikoneslanger

- Fuldstændig sporbarhed med laser-indgraveret varenr., lot. nr. og sidste anvendelsesdato
- Velegnet til engangsbrug
- Komplet bio-pharm certificering - USP Class VI, ISO10993, FDA CFR 177.2600

PureWeld® XL svejsbare, pumpe og transport slanger

- ADCF, svejse- og varmemeforseglbare slanger
- Ingen afskalning ved pumpning i op til 48 timer
- Fremragende flow-stabilitet og driftstid ved brug i peristaltiske pumper

Detaljerede valideringspakker og overensstemmelsescertifikater er tilgængelige on-line

**WATSON
MARLOW**
Tubing

Watson-Marlow Bredel Alitea Flexicon MasoSine
flexicon@flexicon.dk www.watson-marlow.dk

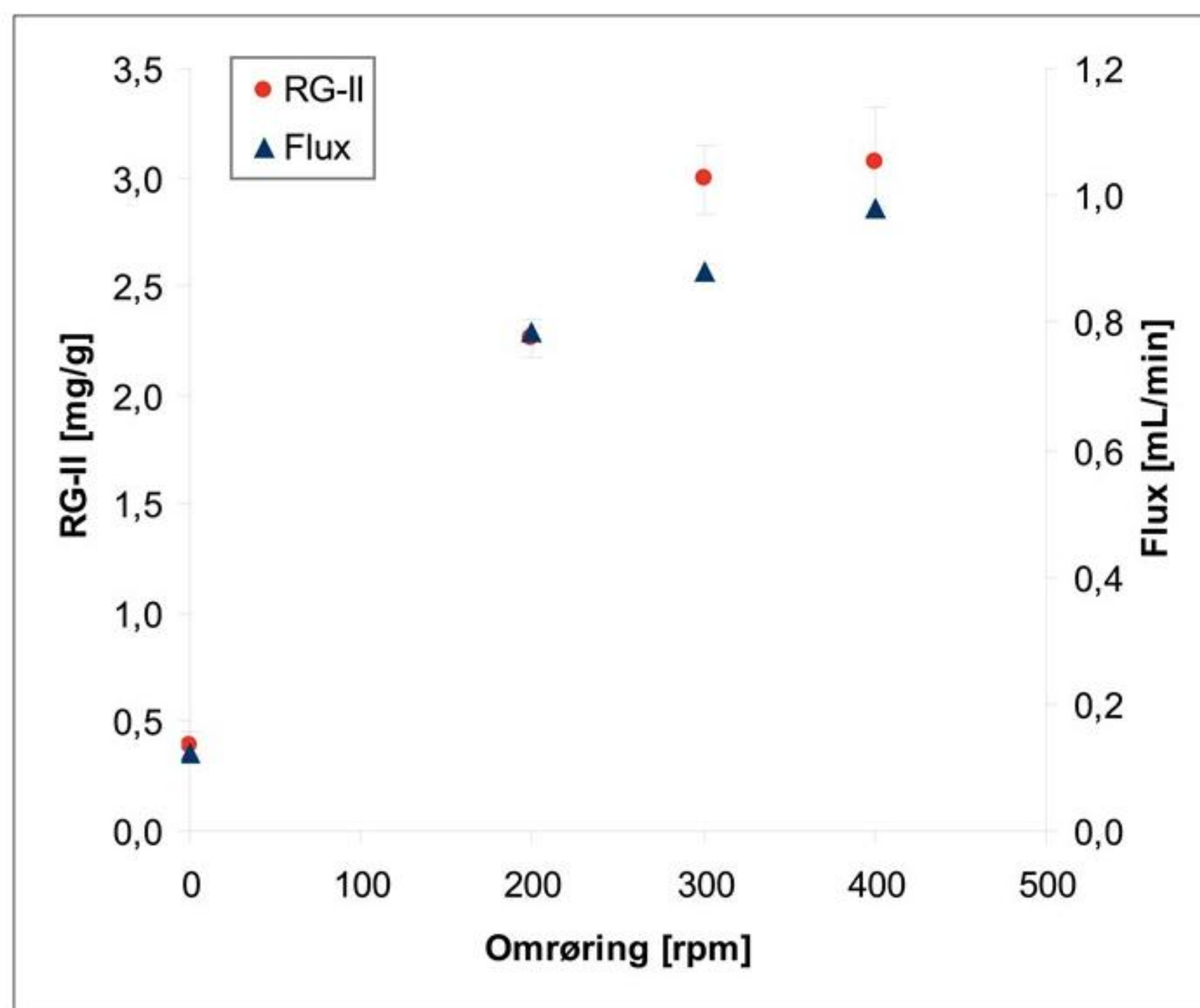
Tel: 57 67 11 55

Watson-Marlow...Innovation in Full Flow

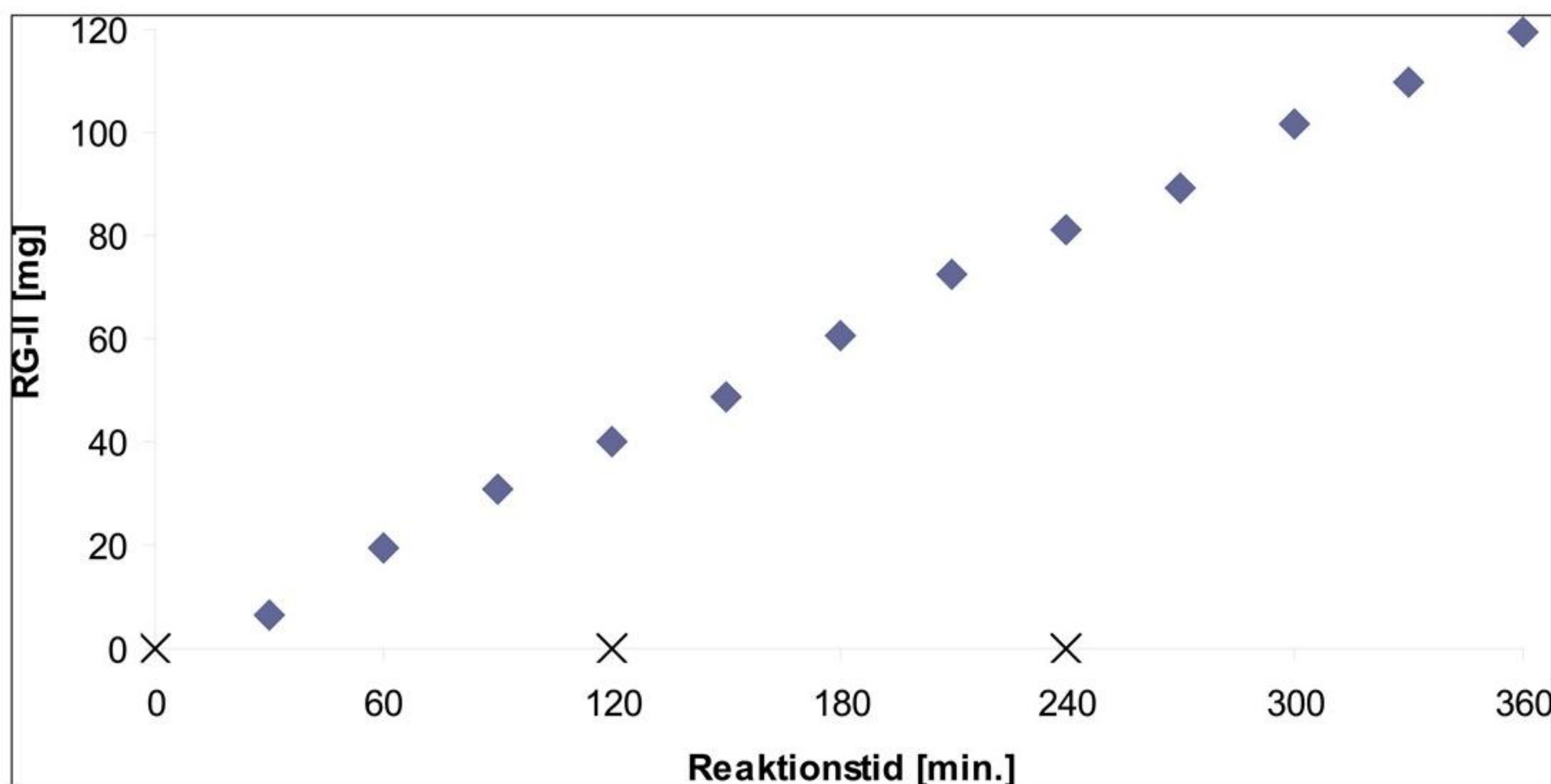
wmb-491

Transmembrant tryk og omrøringshastighed

Det transmembrane tryk havde derimod ikke en lineær effekt på udbyttet af RG-II: maks. udbytte blev opnået ved et transmembrant tryk midt i det testede interval (0,5-2,5 bar), dvs. omkring 1,6 bar (figur 2). At udbyttet ikke stiger lineært med trykket skyldes sandsynligvis at højere tryk giver problemer med fouling af membranen og dermed et lavere produktudbytte. Generelt kan omrøring til en vis grad afhjælpe problemer med fouling. Det viste sig, at flux af permeat over membranen steg markant ved ændring af omrøringshastigheden fra 0 til 200 rpm, efterfulgt af en svagere stigning fra 200 til 400 rpm (figur 3). Samme tendens blev observeret for udbyttet af RG-II, hvor der dog ikke var forskel fra 300 til 400 rpm (figur 3).



Figur 3. Omrøringens effekt på udbyttet af RG-II (mg/g pektin) fra sukkerroepektin og på flux af permeat over membranen (mL/min.) op til 400 rpm ved reaktion med pektin lyase fra *Aspergillus aculeatus*.



Figur 4. Udbytte af RG-II (mg) fra sukkerroepektin ved kontinuert proces i membranreaktor med pektin lyase fra *Aspergillus aculeatus* over 6 timer med tilsætning af nyt substrat hver anden time (angivet med kryds).



Potentiale som kontinuert proces

Ved en reaktionstid på 2,5 timer opnåede vi et udbytte af RG-II på 70% af det teoretiske maks. (indhold RG-II i sukkerroepektin bestemt til 31,5 mg/g pektin) sammenlignet med de ca. 10% opnået efter 30 minutter (figur 4). Fra 30 minutter og op til 2,5 timer var udbyttet af RG-II lineært afhængigt af reaktionstiden. Pektin lyase fra *A. aculeatus* udviste fuld stabilitet i en kontinuert proces over 6 timer med tilsætning af substrat hver anden time, hvor udbyttet af RG-II blev på 63 % af det teoretiske maksimum (figur 4). Hastigheden hvormed der dannedes produkt var konstant over 6 timer (figur 4). Der er altså potentiale for at udvikle en kontinuert membranreaktorproces til enzymatisk udvinning af RG-II fra sukkerroepektin, der er et affaldsprodukt fra den danske sukkerproduktion. Hvorvidt enzymatisk udvundet RG-II fra sukkerroepektin har en reel fysiologisk effekt er endnu uvist.

E-mail-adresse:

Birgitte Zeuner: biz@kt.dtu.dk

Referencer

1. Tahiri M, Pellerin P, Tressol JC, Doco T, Pépin D, Rayssiguier Y, Coudray C. The rhamnogalacturonan-II dimer decreases intestinal absorption and tissue accumulation of lead in rats. *Nutrition* 2000; 130: 249-253.
2. Shin KS, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Rhamnogalacturonan II from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer as a macrophage Fc receptor expression-enhancing polysaccharide. *Carbohydrate Research* 1997; 300: 239-249.
3. Shin KS, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Rhamnogalacturonan II dimers cross-linked by borate diesters from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer are responsible for expression of their IL-6 production enhancing activities. *Carbohydrate Research* 1998; 307: 97-106.
4. Vidal S, Salmon JM, Williams P, Pellerin P. *Penicillium daleae*, a soil fungus able to degrade rhamnogalacturonan II, a complex pectic polysaccharide. *Enzyme and Microbial Technology* 1999; 24: 283-290.
5. OPinelo M, Jonsson G, Meyer AS. Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: Molecular and operational features affecting performance. *Separation and Purification Technology* 2009; 70(1): 1-11.